



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/15 (2023.01); A61K 36/42 (2023.01)

(21)(22) Заявка: 2022118006, 01.07.2022

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
01.07.2022

Дата регистрации:
28.02.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 01.07.2022

(45) Опубликовано: 28.02.2023 Бюл. № 7

Адрес для переписки:

450008, г.Уфа, ул.Ленина, 3, ФГБОУ ВО
"БАШГОСМЕДУНИВЕРСИТЕТ",
ПАТЕНТНЫЙ ОТДЕЛ, Самородов
Александр Владимирович

(72) Автор(ы):

Галияхметова Эльвира Халитовна (RU),
Низамова Альфина Ансафовна (RU),
Кудашкина Наталья Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "БАШКИРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ"
Министерства здравоохранения Российской
Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: Государственная фармакопея
Российской Федерации. XIV изд. - М., 2018. -
Т. 4 -С.6066, стр.6058-6065. ЭЛЬ МАБРУКИ
ХАКИМ и др. Разработка методики
количественного определения сапонинов в
траве Грыжника голого- *Herniaria glabra* L. //
НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ Серия Медицина.
Фармация. 2014. N 24 (195). Выпуск 28, стр.235-
238. ВУ12568 С1, 30.10.2009. НИЗАМОВА
(см. прод.)

(54) СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ САПОНИНОВ В ТРАВЕ ГИНОСТЕММЫ ПЯТИЛИСТНОЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности, а именно к способу количественного определения суммы сапонинов в траве гиностеммы пятилистной, включающему водно-спиртовую экстракцию измельченного растительного сырья 70% спиртом этиловым в течение 90 минут, взаимодействие с серной кислотой на кипящей водяной бане в течение 10 минут, измерение оптической плотности и расчет содержания суммы сапонинов, согласно изобретению проводят экстракцию измельченной до размера частиц 3,0 мм травы гиностеммы пятилистной при соотношении

навески сырья и объема экстрагента 1:200, к извлечению добавляют концентрированную серную кислоту в соотношении 1:5, после чего оптическую плотность раствора измеряют при длине волны 322±2 нм, а содержание суммы сапонинов в траве гиностеммы пятилистной рассчитывают в пересчете на β-эсцин в процентах X по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 200 \cdot 10 \cdot (5 + V_0) \cdot 100 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 10}{A_0 \cdot 100 \cdot (5 + V_1) \cdot a_1 \cdot 5 \cdot (100 - W) \cdot 1 \cdot 10},$$

где: X - содержание суммы сапонинов в траве

гиностеммы пятилистной в пересчете на β -эсцин, %; A_1 - оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 - оптическая плотность раствора СО β -эсцина; a_1 - масса сырья, г; a_0 - масса СО β -эсцина, г; V_0 - объем аликвоты раствора СО β -

эсцина, мл; V_1 - объем аликвоты испытуемого раствора, мл; W - влажность, %. Вышеописанный способ позволяет повысить точность количественного определения суммы сапонинов в траве гиностеммы пятилистной в пересчете на β -эсцин. 5 табл., 2 пр.

(56) (продолжение):

А.А. и др. Высокоэффективная тонкослойная хроматография при анализе тритерпеновых сапонинов GYNOSTEMMA PENTAPHYLLUM // Медицинский вестник Башкортостана. Том 16, N 5 (95), 2021, стр.21-26. FR 306460 A1, 27.11.2020.

RU 2790821 C1

RU 2790821 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

G01N 33/15 (2023.01); A61K 36/42 (2023.01)(21)(22) Application: **2022118006, 01.07.2022**(24) Effective date for property rights:
01.07.2022Registration date:
28.02.2023

Priority:

(22) Date of filing: **01.07.2022**(45) Date of publication: **28.02.2023** Bull. № 7

Mail address:

**450008, g.Ufa, ul.Lenina, 3, FGBOU VO
"BASHGOSMEDUNIVERSITET", PATENTNYJ
OTDEL, Samorodov Aleksandr Vladimirovich**

(72) Inventor(s):

**Galiakhmetova Elvira Khalitovna (RU),
Nizamova Alfina Ansafovna (RU),
Kudashkina Natalia Vladimirovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia «BASHKIRSKII
GOSUDARSTVENNYI MEDITSINSKII
UNIVERSITET» Ministerstva
zdravookhraneniia Rossiiskoi Federatsii (RU)**(54) **METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF SAPONINS IN GYNOSTEMMA PENTAPHYLLUM**

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceutical industry.

SUBSTANCE: invention relates to the pharmaceutical industry, and in particular to a method for quantitative determination of the amount of saponins in *Gynostemma pentaphyllum*, including water-alcohol extraction of crushed vegetable raw materials with 70% ethyl alcohol for 90 minutes, interaction with sulfuric acid in a boiling water bath for 10 minutes, measurement of optical density and calculation of the content of the sum of saponins. According to the invention, the extraction of *Gynostemma pentaphyllum*, crushed to a particle size of 3.0 mm, is carried out at a ratio of a sample of raw materials and an extractant volume of 1:200, concentrated sulfuric acid is added to the extraction in a ratio of 1:5, after which the optical density of the solution is measured at a wavelength of 322±2 nm, and the content of the sum of saponins in

Gynostemma pentaphyllum is calculated in terms of β-escsin in percent *X* according to the formula:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 200 \cdot 10 \cdot (5 + V_0) \cdot 100 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 10}{A_0 \cdot 100 \cdot (5 + V_1) \cdot a_1 \cdot 5 \cdot (100 - W) \cdot 1 \cdot 10},$$

where: *X* is the content of the amount of saponins in *Gynostemma pentaphyllum* in terms of β-escsin, %; *A*₁ is optical density of the test solution; *A*₀ is optical density of solution CO β-escsin; *a*₁ is mass of raw materials, g; *a*₀ is mass of CO β-escina, g; *V*₀ is the volume of an aliquot of a solution of CO β-escsin, ml; *V*₁ is the volume of an aliquot of the test solution, ml; *W* is humidity, %.

EFFECT: improving the accuracy of the quantitative determination of the amount of saponins in *Gynostemma pentaphyllum* in terms of β-escsin.

1 cl, 5 tbl, 2 ex

Предлагаемое изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности и может быть использовано в центрах контроля качества и сертификации лекарственных средств, в лабораториях контрольно-аналитического направления при определении количественного содержания суммы сапонинов в траве гиностеммы пятилистной (Gynostemma pentaphyllum) (Thunb.) Makino.

Система контроля качества лекарственных средств требует от фармацевтической науки постоянного усовершенствования подходов к стандартизации биологически активных соединений с применением современных физико-химических методов анализа и актуальных данных об их хроматографических, спектральных и биологических свойствах, позволяющих разделять и избирательно определять содержание конкретных веществ.

Гиностемма пятилистная (Gynostemma pentaphyllum) (Thunb.) Makino является популярным в Юго-Восточной Азии растением. Она применяется как источник полезных активных и синергических компонентов, в числе которых содержатся важные сапонины-гипенозиды. Гиностемма используется для получения чая «Jiaogulan» (Китай, сертификат №AR-16-SU-040016-01-EN) и пищевых добавок в виде капсул от производителей Paradise Herbs (Гиностемма, 60 вегетарианских капсул) и Solaray (экстракт корня гиностеммы, 410 мг, 60 растительных капсул). Лекарственные средства на основе сырья гиностеммы пятилистной обладают тонизирующими, адаптогенными, антиоксидантными, общеукрепляющими и другими фармакологическими свойствами [The determination of antioxidant activity of ethanol extracts of Gynostemma pentaphyllum I A.A. Nizamova, E.Kh. Galiakhmetova, K.S. Mochalov, N.V. Kudashkina // Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences. -2021. - Vol.17, №1. - P. 91-98].

Особый интерес, наряду с дикорастущим растением, представляет гиностемма пятилистная, адаптированная к умеренно-континентальному климату Республики Башкортостан. Доказано, что культивируемое растение содержит целый комплекс биологически активных веществ: полисахариды, витамины, флавоноиды, дубильные вещества, сапонины, аминокислоты, макро- и микроэлементы. Существенный вклад в химический состав и фармакологическую активность гиностеммы вносят тритерпеновые сапонины.

Известен способ количественного определения сапонинов в корневищах с корнями синюхи голубой, заключающийся в экстракции сапонинов из навески растительного сырья и их взаимодействии с концентрированной серной кислотой. Измеряют оптическую плотность продукта реакции при длине волны 321 нм и рассчитывают содержание суммы сапонинов в пересчете на β -эсцин [Патент ВУ 12568, 2009]. Наиболее близким аналогом изобретения является способ определения сапонинов в корнях женьшеня настоящего, характеризующийся тем, что 70% водно-спиртовое извлечение из корней женьшеня смешивают с 70% раствором серной кислоты, затем нагревают полученную смесь на водяной бане в течение 10 мин и определяют на спектрофотометре оптическую плотность при длине волны (λ), равной 526 нм. При осуществлении анализа применяют в качестве стандартного образца спиртовой раствор панаксозида Rg₁ [Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. - М., 2018. - Т. 4 - С. 6058]. Задачей изобретения является разработка способа количественного определения суммы сапонинов в траве гиностеммы пятилистной, обладающего высокой специфичностью и воспроизводимостью. Технический результат - повышение точности количественного определения суммы сапонинов в траве гиностеммы пятилистной в пересчете на β -эсцин.

Предлагаемый способ количественного определения суммы сапонинов в траве

гиностеммы пятилистной осуществляется следующим образом. Предварительно получают водно-спиртовое извлечение из сырья путем экстракции 1 г точной навески измельченной и просеянной до размера частиц 3 мм травы гиностеммы пятилистной 70% спиртом этиловым в течение 90 минут при соотношении массы сырья и объема экстрагента 1:200. К извлечению добавляют концентрированную серную кислоту в соотношении 1:5 и нагревают на кипящей водяной бане 10 мин. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при длине волны 322 ± 2 нм. Содержание суммы сапонинов (X) в пересчете на β -эсцин в % рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 200 \cdot 10 \cdot (5 + V_0) \cdot 100 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 10}{A_0 \cdot 100 \cdot (5 + V_1) \cdot a_1 \cdot 5 \cdot (100 - W) \cdot 1 \cdot 10} \cdot 10^{-2}$$

где:

X - содержание суммы сапонинов в траве гиностеммы пятилистной в пересчете на β -эсцин, %;

A_1 - оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 - оптическая плотность раствора СО β -эсцина;

a_1 - масса сырья, г;

a_0 - масса СО β -эсцина;

V_0 - объем аликвоты раствора СО β -эсцина, мл;

V_1 - объем аликвоты испытуемого раствора, мл;

W - влажность, %.

При изучении характеристик спектра выявлено, что именно тритерпеновый сапонин β -эсцин определяет характер кривой поглощения 70% водно-спиртового извлечения из травы гиностеммы пятилистной. Определено, что максимумы спектра извлечения совпали с максимумами спектра раствора СО β -эсцина (CAS №11072-93-8, производитель Santa Cruz Biotechnology) (262, 322, 384 нм) (чертеж), где кривая 1 на чертеже демонстрирует раствор водно-спиртового извлечения из травы гиностеммы пятилистной в присутствии концентрированной серной кислоты в соотношении 1:5, а кривая 2 - раствор СО β -эсцина в присутствии концентрированной серной кислоты в соотношении 1:5. Данный факт позволяет проводить спектрофотометрическое определение суммы сапонинов в траве гиностеммы пятилистной при аналитической длине волны 322 нм.

В первую очередь нами изучено влияние экстрагента на выход сапонинов в процессе экстракции. В таблице 1 представлены данные зависимости выхода сапонинов из травы гиностеммы пятилистной от концентрации спирта этилового. Максимальный выход суммы сапонинов из травы гиностеммы пятилистной наблюдается при использовании в качестве экстрагента спирта этилового 70%.

Во вторую очередь изучено влияние соотношения массы сырья и объема экстрагента на выход сапонинов (таблица 2). Исходя из полученных результатов видно, что при соотношении навески сырья и объема экстрагента 1:200 выход сапонинов максимален.

Далее нами подобрано оптимальное время экстракции в кипящей водяной бане. Из таблицы 3 видно, что наилучший выход сапонинов из травы гиностеммы пятилистной наблюдается при экстракции в течение 90 минут. После было исследовано влияние степени измельчения сырья на выход сапонинов из травы гиностеммы. В таблице 4 приведены данные, показывающие наибольший выход сапонинов при экстракции измельченного сырья, просеянного сквозь сито диаметром отверстий 3,0 мм.

На последнем этапе изучен вопрос о продолжительности реакции извлечения из травы гиностеммы пятилистной с концентрированной серной кислотой. Из таблицы 5

следует, что оптимальным временем химической реакции при нагревании соответствует 10 минутам. Принимая во внимание тот факт, что пробоподготовка является многостадийным процессом, вероятность возникновения относительной ошибки возрастает. Поэтому был сделан альтернативный выбор в пользу одностадийного

процесса экстракции сырья, при котором происходит максимальный выход сапонинов. Таким образом, в ходе исследования определены следующие оптимальные факторы: экстрагент - спирт этиловый 70%, соотношение навески сырья и объема экстрагента 1: 200, время экстракции - 90 минут, степень измельчения сырья - 3,0 мм, время реакции с концентрированной серной кислотой - 10 минут.

Так как доминирующим сапонином в траве гиностеммы пятилистной является β -эсцин и максимальное поглощение водно-спиртового извлечения из сырья наблюдается при 322 нм, рациональным является определение содержания суммы сапонинов в пересчете на β -эсцин при этой длине волны.

Предлагаемый способ реализуется следующим образом. Аналитическую пробу сырья около 1,0 г (точная навеска), измельченного и просеянного до размера частиц 3 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 500 мл, наливают 200 мл спирта этилового 70%. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и экстрагируют на кипящей водяной бане 90 мин. Затем колбу охлаждают и извлечение фильтруют, отбрасывая первые порции, в колбу вместимостью 500 мл. Полученное извлечение количественно 5 мл переносят в выпарительную чашку и упаривают на водяной бане досуха. Затем сухой остаток охлаждают, растворяют в 5 мл воды (протирая стеклянной палочкой) и количественно переносят на слой силикагеля (размер частиц 40/100) на стеклянном фильтре. Осадок повторно элюируют 10 мл воды. Водный элюат полностью отбрасывают. Затем элюируют спиртом этиловым 95% в мерную колбу вместимостью 10 мл до метки, перемешивают (раствор А). Далее 1 мл раствора А вносят в мерную колбу вместимостью на 10 мл и доводят объем раствора тем же растворителем (раствор Б). 1 мл раствора Б вносят в мерную колбу вместимостью на 25 мл, прибавляют 5 мл серной кислоты концентрированной и нагревают на кипящей водяной бане 10 мин. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 322 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют спирт этиловый 95%.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО β -эсцина: 1 мл раствора Б_{СО} помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5 мл серной кислоты концентрированной и нагревают на кипящей водяной бане 10 мин. Измерения проводят аналогично испытуемому раствору. Содержание суммы сапонинов (X) в пересчете на β -эсцин в % рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 200 \cdot 10 \cdot (5 + V_0) \cdot 100 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 10}{A_0 \cdot 100 \cdot (5 + V_1) \cdot a_1 \cdot 5 \cdot (100 - W) \cdot 1 \cdot 10},$$

где:

A_1 - оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 - оптическая плотность раствора СО β -эсцина;

a_1 - масса сырья, г;

a_0 - масса СО β -эсцина;

V_0 - объем аликвоты раствора СО β -эсцина, мл;

V_1 - объем аликвоты испытуемого раствора, мл;

W - влажность, %.

Приготовление раствора СО β-эсцина. Около 0,05 г (точная навеска) СО β-эсцина помещают в мерную колбу на 100 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 95% (раствор А_{СО}), 1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью на 10 мл и доводят объем раствора тем же растворителем (раствор Б_{СО}). Срок годности
 5 раствора 1 месяц. Предлагаемый способ поясняется следующими примерами. Пример 1. Аналитическую пробу сырья гиностеммы пятилистной (заготовлено в Уфимском районе Республики Башкортостан, 2020 г.) 1,010 г, измельченного и просеянного до размера частиц 3 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 500 мл, наливают
 10 200 мл спирта этилового 70%). Колбу присоединяют к обратному холодильнику и экстрагируют на кипящей водяной бане 90 мин. Затем колбу охлаждают и извлечение фильтруют, отбрасывая первые порции, в колбу вместимостью 500 мл. Полученное извлечение количественно 5 мл переносят в выпарительную чашку и упаривают на
 15 водяной бане досуха. Затем сухой остаток охлаждают, растворяют в 5 мл воды (протирая стеклянной палочкой) и количественно переносят на слой силикагеля (размер частиц 40/100) на стеклянном фильтре. Осадок повторно элюируют 10 мл воды. Водный элюат полностью отбрасывают. Затем элюируют спиртом этиловым 95% в мерную колбу
 20 вместимостью 10 мл до метки, перемешивают (раствор А). Далее 1 мл раствора А вносят в мерную колбу вместимостью на 10 мл и доводят объем раствора тем же растворителем (раствор Б).

1 мл раствора Б вносят в мерную колбу вместимостью на 25 мл, прибавляют 5 мл серной кислоты концентрированной и нагревают на кипящей водяной бане 10 мин. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 320 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения
 25 используют спирт этиловый 95%.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО β-эсцина: 1 мл раствора Б_{СО} помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5 мл серной кислоты концентрированной и нагревают на кипящей водяной бане 10 мин. Измерения проводят аналогично испытуемому раствору. Содержание суммы сапонинов (X) в пересчете на
 30 β-эсцин в % рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{0,420 \cdot 0,05 \cdot 200 \cdot 10 \cdot (5+1) \cdot 100 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 10}{0,510 \cdot 100 \cdot (5+1) \cdot 1,010 \cdot 5 \cdot (100-5,51) \cdot 1 \cdot 10} \cdot$$

где:

0,420 - оптическая плотность испытуемого раствора;

0,510 - оптическая плотность раствора СО β-эсцина;

1,010 - масса сырья, г;

0,05 - масса СО β-эсцина;

1 - объем аликвоты раствора СО β-эсцина, мл;

1 - объем аликвоты испытуемого раствора, мл;

5,51 - влажность, %.

Приготовление раствора СО β-эсцина. 0,05 г СО β-эсцина помещают в мерную колбу на 100 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 95% (раствор А_{СО}).

1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью на 10 мл и доводят объем
 45 раствора тем же растворителем (раствор Б_{СО}). Срок годности раствора 1 месяц.

Содержание суммы сапонинов в пересчете на β-эсцин составило 17,26%. Все результаты статистически обработаны. Ошибка единичного количественного определения составила 0,07%).

Пример 2. Аналитическую пробу сырья гиностеммы пятилистной (заготовлено в Уфимском районе Республики Башкортостан, 2020 г.) 1,000 г, измельченного и просеянного до размера частиц 3 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 500 мл, наливают 200 мл спирта этилового 70%). Колбу присоединяют к обратному
 5 холодильник и экстрагируют на кипящей водяной бане 90 мин. Затем колбу охлаждают и извлечение фильтруют, отбрасывая первые порции, в колбу вместимостью 500 мл. Полученное извлечение количественно 5 мл переносят в выпарительную чашку и упаривают на водяной бане досуха. Затем сухой остаток охлаждают, растворяют в 5 мл воды (протирая стеклянной палочкой) и количественно переносят на слой силикагеля
 10 (размер частиц 40/100) на стеклянном фильтре. Осадок повторно элюируют 10 мл воды. Водный элюат полностью отбрасывают. Затем элюируют спиртом этиловым 95% в мерную колбу вместимостью 10 мл до метки, перемешивают (раствор А). Далее 1 мл раствора А вносят в мерную колбу вместимостью на 10 мл и доводят объем раствора тем же растворителем (раствор Б).

15 1 мл раствора Б вносят в мерную колбу вместимостью на 25 мл, прибавляют 5 мл серной кислоты концентрированной и нагревают на кипящей водяной бане 10 мин. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 324 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют спирт этиловый 95%.

20 Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО β-эсцина: 1 мл раствора Б_{СО} помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5 мл серной кислоты концентрированной и нагревают на кипящей водяной бане 10 мин. Измерения проводят аналогично испытуемому раствору. Содержание суммы сапонинов (X) в пересчете на β-эсцин в % рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{0,415 \cdot 0,05 \cdot 200 \cdot 10 \cdot (5+1) \cdot 100 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 10}{0,510 \cdot 100 \cdot (5+1) \cdot 1,000 \cdot 5 \cdot (100-5,51) \cdot 1 \cdot 10},$$

где:

0,415 - оптическая плотность испытуемого раствора;

30 0,510 - оптическая плотность раствора СО β-эсцина;

1,000 - масса сырья, г;

0,05 - масса СО β-эсцина;

1 - объем аликвоты раствора СО β-эсцина, мл;

1 - объем аликвоты испытуемого раствора, мл;

35 5,51 - влажность, %.

Приготовление раствора СО β-эсцина. 0,05 г СО β-эсцина помещают в мерную колбу на 100 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 95% (раствор А_{СО}).

1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью на 10 мл и доводят объем раствора тем же растворителем (раствор Б_{СО}). Срок годности раствора 1 месяц.

40 Содержание суммы сапонинов в пересчете на β-эсцин составило 17,22%. Все результаты статистически обработаны. Ошибка единичного количественного определения составила 0,06%).

Таким образом, предлагаемый способ количественного определения суммы сапонинов в пересчете на β-эсцин в траве гиностеммы пятилистной с использованием
 45 спектрофотометрического метода разработан впервые для данного вида сырья и обладает следующими достоинствами:

1. Разработанный метод является воспроизводимым, доступным и не трудоемким.
2. Пересчет суммы сапонинов идет на специфическое для травы гиностеммы

пятилистной вещество тритерпеновой природы - β -эсцин.

3. Относительная погрешность единичного определения предлагаемой методики составляет 0,06% и 0,07%, что свидетельствует об объективности разработанного способа количественного определения сапонинов.

СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ САПОНИНОВ В ТРАВЕ ГИНОСТЕММЫ ПЯТИЛИСТНОЙ

Таблица 1

Содержание сапонинов в траве *Gynostemma pentaphyllum* в зависимости от экстрагента

Экстрагент	Содержание суммы сапонинов (в пересчёте на β -эсцин), %
30% спирт этиловый	9,42 $\pm$ 0,47
70% спирт этиловый	11,41$\pm$0,57
95% спирт этиловый	9,95 $\pm$ 0,50

Таблица 2

Содержание сапонинов в траве *Gynostemma pentaphyllum* в зависимости от соотношения сырья и экстрагента

Соотношение «сырье-экстрагент»	Содержание суммы сапонинов (в пересчёте на β -эсцин), %
1:30	11,41 $\pm$ 0,57
1:50	12,36 $\pm$ 0,61
1:100	15,77 $\pm$ 0,78
1:200	17,26$\pm$0,07
1:300	16,85 $\pm$ 0,05

Таблица 3

Содержание сапонинов в траве *Gynostemma pentaphyllum* в зависимости от времени экстракции

Время экстракции, мин	Содержание суммы сапонинов (в пересчёте на β -эсцин), %
30	12,17 $\pm$ 0,61
50	16,39 $\pm$ 0,81
90	17,26$\pm$0,07
120	17,01 $\pm$ 0,05

СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ САПОНИНОВ В ТРАВЕ ГИНОСТЕММЫ ПЯТИЛИСТНОЙ

Таблица 4

Содержание сапонинов в траве *Gynostemma pentaphyllum* в зависимости от измельчения сырья

Степень измельченности, мм	Содержание суммы сапонинов (в пересчёте на β-эсцин), %
0,5	9,67±0,48
3	11,41±0,57
7	10,72±0,53

Таблица 5

Содержание сапонинов в траве *Gynostemma pentaphyllum* в зависимости от времени реакции с концентрированной серной кислотой

Время реакции с концентрированной серной кислотой, мин	Содержание суммы сапонинов (в пересчёте на β-эсцин), %
5	16,76±0,33
10	17,26±0,07
15	16,28±0,81
20	16,35±0,82

(57) Формула изобретения

Способ количественного определения суммы сапонинов в траве гиностеммы пятилистной, включающий водно-спиртовую экстракцию измельченного растительного сырья 70% спиртом этиловым в течение 90 минут, взаимодействие с серной кислотой на кипящей водяной бане в течение 10 минут, измерение оптической плотности и расчет содержания суммы сапонинов, отличающийся тем, что проводят экстракцию измельченной до размера частиц 3,0 мм травы гиностеммы пятилистной при соотношении навески сырья и объема экстрагента 1:200, к извлечению добавляют концентрированную серную кислоту в соотношении 1:5, после чего оптическую плотность раствора измеряют при длине волны 322±2 нм, а содержание суммы сапонинов в траве гиностеммы пятилистной рассчитывают в пересчете на β-эсцин в процентах X по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 200 \cdot 10 \cdot (5 + V_0) \cdot 100 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 10}{A_0 \cdot 100 \cdot (5 + V_1) \cdot a_1 \cdot 5 \cdot (100 - W) \cdot 1 \cdot 10},$$

где:

X - содержание суммы сапонинов в траве гиностеммы пятилистной в пересчете на

β -эсцин, %;

A_1 - оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 - оптическая плотность раствора СО β -эсцина;

5 a_1 - масса сырья, г;

a_0 - масса СО β -эсцина, г;

V_0 - объем аликвоты раствора СО β -эсцина, мл;

V_1 - объем аликвоты испытуемого раствора, мл;

10 W - влажность, %.

15

20

25

30

35

40

45

